

**CAMBIOS EN EL PATRÓN DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA A TRAVÉS DE  
LA ONTOGENIA EN LIPPIA ALBA**

**OSCAR JAVIER AYALA DÍAZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
BUCARAMANGA  
2006**

**CAMBIOS EN EL PATRÓN DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA A TRAVÉS DE  
LA ONTOGENIA EN LIPPIA ALBA**

**OSCAR JAVIER AYALA DÍAZ**

**Trabajo de grado presentado para optar al título de Biólogo**

**Director  
NELSON FACUNDO RODRÍGUEZ LÓPEZ  
FISIÓLOGO VEGETAL, MSc.**

**Codirector  
EDGAR JAVIER RINCÓN BARÓN  
BIÓLOGO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
BUCARAMANGA  
2006**

## **CONTENIDO**

	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1. METODOS</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Área de estudio y propagación de plantas</b>	<b>3</b>
<b>1.2 Diseño experimental</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Análisis estadístico</b>	<b>5</b>
<b>1.3.1 Variación Temporal de la Plasticidad</b>	<b>5</b>
<b>1.3.2 Integración de la Plasticidad</b>	<b>6</b>
<b>2. RESULTADOS</b>	<b>7</b>
<b>3. DISCUSIÓN</b>	<b>9</b>
<b>4. AGRADECIMIENTOS</b>	<b>13</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>14</b>

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>	
<b>Tabla 1</b>	Caracteres morfoanatómicos foliares y arquitecturales de plantas de <u>Lippia alba</u> creciendo en diferentes niveles de luz incidente (33%, 57% y 100%) en diferentes etapas de desarrollo. Se observa la media y el (error estándar).	<b>21</b>
<b>Tabla 2</b>	ANOVA de dos vías para caracteres morfoanatómicos y arquitecturales de plantas de <u>Lippia alba</u> creciendo en diferentes niveles de luz (33%, 57% y 100% de luz incidente) en diferentes etapas de desarrollo. Factores principales: Nivel de luz y Edad. Se muestran los valores <i>P</i> .	<b>22</b>
<b>Tabla 3</b>	ANCOVA para caracteres morfoanatómicos y arquitecturales de plantas de <u>Lippia alba</u> creciendo en diferentes niveles de luz (33%, 57% y 100% de luz incidente) en diferentes etapas de desarrollo. Factores principales: Nivel de luz y Edad. Se muestran los valores <i>P</i> .	<b>23</b>
<b>Tabla 4</b>	Resultados de la comparación múltiple entre elevaciones en diferentes edades en la etapa vegetativa. El valor corresponde al intercepto con el eje Y. (Diferencias entre las elevaciones)	<b>24</b>
<b>Tabla 5</b>	Resultados de la comparación múltiple entre pendientes en diferentes edades en la etapa vegetativa. El valor corresponde a la pendiente. (Diferencias entre las pendientes).	<b>25</b>

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.	
<b>Figura 1</b>	Normas de reacción de caracteres arquitecturales a la intensidad de luz (33, 57 y 100% de exposición solar) a través del curso vegetativo de <i>Lippia alba</i> , cuantificadas a los 20 días (20 d, triángulos y línea de guiones con puntos), 34 días (34 d, rombos y línea de guiones cortos), 48 días (48 d, cuadrados y línea sólida) y 62 días (62 d, círculos y línea de guiones largos).	26
<b>Figura 2</b>	Normas de reacción de caracteres anatómicos foliares a la intensidad de luz (33, 57 y 100% de exposición solar) a través del curso vegetativo de <i>Lippia alba</i> , cuantificadas a los 20 días (20 d, triángulos y línea de guiones con puntos), 34 días (34 d, rombos y línea de guiones cortos), 48 días (48 d, cuadrados y línea sólida) y 62 días (62 d, círculos y línea de guiones largos).	27
<b>Figura 3</b>	Plasticidad promedio (cuadrados) a través de la ontogenia en <i>Lippia alba</i> creciendo en un gradiente de luz para HJ (número de hojas), LR (longitud de ramas), PE (parénquima de empalizada), PS (parénquima esponjoso), RS (número de ramas), EA (epidermis adaxial), EX (epidermis abaxial) y CU (cutícula); error estándar (rectángulos) y desviación estándar (bigotes).	28
<b>Figura 4</b>	Media del fenotipo promedio (cuadrados) a través de la ontogenia de <i>Lippia alba</i> creciendo en un gradiente de luz para LR (longitud de ramas), HJ (número de hojas), PS (parénquima esponjoso), PE (parénquima de empalizada), EA (epidermis adaxial), RS (número de ramas), EX (epidermis abaxial) y CU (cutícula); error estándar (rectángulos) y desviación estándar (bigotes).	29
<b>Figura 5</b>	Curso de la plasticidad a través de la ontogenia en <i>Lippia alba</i> creciendo en un gradiente de luz para HJ (número de hojas), LR (longitud de ramas), PE (parénquima de empalizada), PS (parénquima esponjoso), RS (número de ramas), EA (epidermis adaxial), EX (epidermis abaxial) y CU (cutícula).	30
<b>Figura 6</b>	Fenotipo promedio (cuadrados) a través de la ontogenia de <i>Lippia alba</i> creciendo en un gradiente de luz para LR (longitud de ramas), HJ (número de hojas), PS (parénquima esponjoso), PE (parénquima de empalizada), EA (epidermis adaxial), RS (número de ramas), EX (epidermis abaxial) y CU (cutícula).	31

## RESUMEN

**TÍTULO:** CAMBIOS EN EL PATRÓN DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA A TRAVÉS DE LA ONTOGENIA EN LIPPIA ALBA \*

**AUTOR:** OSCAR JAVIER AYALA DÍAZ\*\*

**PALABRAS CLAVES:** caracteres anatómico-foliare, *Lippia alba*, ontogenia, plasticidad fenotípica, reversibilidad, heterocronia, Colombia, población perturbada.

### DESCRIPCIÓN

Ha sido postulado que la plasticidad de caracteres morfológicos puede cambiar a través de la ontogenia aumentando su intensidad a medida que transcurre el tiempo ontogénico, así la cantidad de plasticidad como la interacción genotipo-ambiente dependería de cuando estas cantidades son medidas. Aquí, hipotetizamos que para una especie generalista como *Lippia alba*, la plasticidad a la luz de caracteres anatómicos foliares a diferencia de caracteres arquitecturales variaría a través de la ontogenia pero no necesariamente aumentaría en su curso. Una interacción significativa de los principales factores en el ANOVA (Tiempo \* Luz), reveló una variación de la plasticidad a través de la ontogenia en respuesta a la intensidad de luz, para el número de hojas, parénquima de empalizada, parénquima esponjoso, epidermis adaxial, epidermis abaxial; sin embargo, exhibieron niveles similares de plasticidad el número de ramas y la longitud de las ramas. Siguiendo nuestra hipótesis la comparación múltiple de pendientes demostró que la plasticidad de caracteres anatómicos foliares disminuyó en algunos momentos a través de la ontogenia, en los cuales, además, estuvo sujeta a reversibilidad, cambiando el patrón de plasticidad para la maximización de la explotación solar que se ha generalizado para plantas. La comparación múltiple del fenotipo medio de caracteres arquitecturales reveló que este aumentó a través de la ontogenia. La variación de la plasticidad del parénquima y su respuesta coordinada a través de la ontogenia posiblemente han ayudado a *Lippia alba* en el exitoso establecimiento (a través de su ontogenia) de su amplio rango de distribución ecológica.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Director, Nelson Facundo Rodríguez López; Codirector, Edgar Javier Rincón Barón.

## ABSTRACT

**TITLE:** CHANGE OF THE PATTERN OF PHENOTYPIC PLASTICITY THROUGHOUT THE ONTOGENY ON LIPPIA ALBA \*

**AUTHOR:** OSCAR JAVIER AYALA DÍAZ \*\*

**KEY WORDS:** anatomical-leaf characters, *Lippia alba*, ontogeny, phenotypic plasticity, reversibility, heterochrony, Colombia, population from area, disturbed

### DESCRIPTION

It has been postulated that plasticity of morphological characters could change throughout ontogeny, incrementing its intensity. Thus, the amount of plasticity and the genotype-environment interaction depends on when those quantities are measure. Here, we hypothesized that the plasticity of anatomical-leaf character to light in contrast with architectural ones of a generalist species like *Lippia alba* vary throughout ontogeny but not necessarily incrementing its intensity as the ontogenic time happens. A significant Time \* Light interaction in the two-way ANOVA (i.e. differential plasticity to light of *Lippia alba* throughout its characters ontogeny) was found for numbers of leaves, palisade parenchyma, lacunar parenchyma, adaxial epidermis, abaxial epidermis; however, similar levels of phenotypic plasticity were found for the number of branches and the branches length. Following our hypothesis, the multiple slopes comparisons revealed that the plasticity of anatomical-leaf characters decreased in moments across ontogeny, in that moments, moreover, the plasticity was subject of reversibility, changing the (its) pattern to the maximize the exploitation of solar radiation known as a generalization in plants (i.e. increase the thickness of anatomical-leaf character with an increment of light intensity). The multiple comparisons of the medium phenotype of architectural characters, showed that its value increased throughout the ontogeny. The variation observed in parenchyma plasticity and its coordinate response throughout ontogeny probably had been supported to *Lippia alba* in its successful establishment (during ontogeny) across the wide range of its ecological distribution.

---

\* Work of Degree

\*\* Facultad of Sciences, Biology School, Nelson Facundo Rodríguez López, Director, Edgar Javier Rincón Barón, Codirector.

## INTRODUCCION

La plasticidad fenotípica es la propiedad de un genotipo dado para producir diferentes fenotipos en respuesta a distintas condiciones ambientales (Pigliucci 2001). La principal herramienta conceptual para examinar la plasticidad de un genotipo es a través de la cuantificación de la norma de reacción (Bradshaw 1965). Las normas de reacción pueden ser plásticas o no y son evaluadas en el estado adulto o al final de la ontogenia (Pigliucci y Schlichting 1995). La plasticidad fenotípica es un atributo de la norma de reacción (Pigliucci 2001) en el cual el fenotipo de un genotipo particular cambia cuando el ambiente es alterado (Pigliucci y Schlichting 1995). Una norma de reacción medida en diferentes genotipos puede tener diferentes patrones (signo de la pendiente), diferentes pendientes (cantidad de plasticidad), diferentes elevaciones (diferencias en el fenotipo promedio a través de los ambientes).

El estudio de la ontogenia es crucial para descifrar los mecanismos por los cuales la actual diversidad fenotípica ha sido generada (Gould 1977). Así, el desarrollo es otro componente de la determinación fenotípica que siempre ha sido olvidado (Pigliucci 2001). La clave para entender las diferencias adultas en las normas de reacción, es precisamente seguir como estas normas de reacción divergen gradualmente a través de la ontogenia (Pigliucci *et al.* 1996).

En plantas, se ha demostrado que la cantidad de plasticidad fenotípica puede cambiar a través de la ontogenia en caracteres morfológicos (Cheplick 1995), generalmente incrementando la intensidad de la respuesta a medida que transcurre el tiempo

ontogénico. Sin embargo, no hay reportes que hayan revelado cambios en el patrón de plasticidad a través de la ontogenia en caracteres arquitecturales o anatómicos foliares. Ese intercambio entre estados alternativos de plasticidad o *Reversibilidad* (Slobodkin 1968, Piersma y Lindstrom 1997) que ocurre para caracteres fisiológicos de la hoja tal como la tasa fotosintética a través de su ontogenia pero no para su forma (Schlichting y Pigliucci 1998). Otros caracteres como la asignación de biomasa se han encontrado reversibles y esto ha sido interpretado como restricciones ontogénicas al sistema de desarrollo (Gedroc *et al.* 1996, McConnaughay y Coleman 1999). Dichas restricciones ontogénicas son alteraciones genéticamente mediadas de los programas de desarrollo “catalizados” por el cambio ambiental (Pigliucci y Schlichting 1995) a las cuales se les ha dado un valor adaptativo (Schlichting y Pigliucci 1998, Pigliucci 2001).

Si especies generalistas como esta (ver Troncoso 1974) pueden presentar mayores grados de plasticidad fenotípica (Futuyma y Moreno 1988, van Tienderen 1997), se esperaría que algunos caracteres anatómicos foliares en *Lippia alba* jueguen un mayor papel más importante en la adaptación a variados ambientes lumínicos, ya que en ellos se realizan la mayoría de procesos fotosintéticos sujetos a una gran regulación durante la ontogenia (Essau 1977, Metcalfe y Chalck 1979, ), por ende se puede hipotetizar que estos caracteres podrían variar a través de la ontogenia su plasticidad y el valor del fenotipo promedio. Además estarían expuestos a reversibilidad (por la estrecha relación entre estructura y fisiología (Paniagua 1997); mientras otros caracteres como los arquitecturales tendrían restringida la posibilidad de que su plasticidad pueda variar, mientras su valor promedio sí variaría.

Considerando todo lo anterior en esta investigación la variación temporal para la plasticidad arquitectural y anatómica foliar durante la etapa vegetativa del sistema de desarrollo de *Lippia alba* Ex. Brown, fue examinada en relación con la disponibilidad de luz. Las preguntas realizadas fueron: (1) ¿Existe variación temporal en la respuesta plástica de caracteres arquitecturales y anatómicos foliares? (2) ¿Las respuestas plásticas a la disponibilidad de luz son coordinadas o su respuesta es carácter específica?

## **1. MÉTODOS**

### **1.1 Área de estudio y Propagación de plántulas**

El experimento fue establecido en el área de la granja experimental Guatiguará sede de la Universidad Industrial de Santander. Los clones de *Lippia alba* (Colombia: Bucaramanga: José Luís Fernández Alonso, 2005, 480749 COL) se obtuvieron de una población perturbada, a plena exposición solar en el área metropolitana de Bucaramanga. Dichos descendientes vegetativos de esta población se propagaron hasta la aparición de las primeras hojas (1-2 semanas), las plantas individuales fueron así transplantadas a bolsas plásticas de 0.05 m<sup>3</sup> (una plántula por bolsa) que contenían la mezcla de un sustrato 3:1:1:1 (tierra: suelo: limo: materia orgánica.) a quien se le realizó un análisis químico para adicionar los nutrientes necesarios para un óptimo desarrollo de las plantas. Las plantas fueron mantenidas bajo temperatura y humedad relativa ambiental y fueron regadas dos veces al día (600 y 1600 horas) hasta capacidad

de campo con agua de tubo para evitar el stress por sequía (Muller *et al.* 2000). Las temperaturas D aria/Nocturna fueron  $33^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

## 1.2 Diseño Experimental

El arreglo experimental incluyó una distribución aleatoria de 510 plantas de *Lippia alba*, (170 plantas por tratamiento) en tres tratamientos así: (T1) luz baja (37% luz solar), (T2) luz media (53% de luz) y (T3) campo abierto (100% de luz). El segundo y tercer tratamiento fueron producidos utilizando polisombra soportados en una estructura de madera. Previo a la investigación se corroboró el porcentaje de radiación incidente debajo de las mallas con un sensor de luz fotosintéticamente activa LI-COR (Licor, USA). Los tratamientos fueron orientados en sentido norte-sur para reducir el sombreado (Mc Connaughay y Coleman 1999).

Las plantas fueron muestreadas a través de la ontogenia vegetativa a los 20 (1 semana después del arreglo experimental), 34, 48 y 62 (antes de la floración) días de edad, en los cuales se registraron las caracteres arquitecturales en siete plantas, y en tres plantas para los caracteres anatómico foliares en cada tratamiento, de manera aleatoria.

Para la medición de caracteres anatómicos foliares fueron utilizadas 3 hojas completamente expandidas, de 3 plantas elegidas al azar de cada tratamiento. Se realizó el muestreo en el estrato superior de la planta. Las láminas foliares fueron cortadas a nivel central en dos regiones (Queiroz voltan *et al.* 1992), fijadas en F.A.A (Formol 10ml, agua destilada 35ml, ácido acético glacial 5ml, Etanol al 95% 50ml), deshidratadas en alcoholes ascendentes, aclaradas en dos cambios de xilol y montadas

en parafina. Se realizaron cortes transversales con un grosor de 10( $\mu\text{m}$ ) de espesor en un micrótopo rotativo manual SPENCER 820 America Optical Corporation, fijadas en láminas porta objetos; posteriormente teñidos con Hematoxilina de Erhlich (Ruzin 1999), y montados de manera permanente en Bálsamo de Canadá. Los montajes seleccionados fueron documentados fotográficamente con la ayuda de un microscopio óptico (OLYMPUS CHS con micrómetro), y una cámara digital (OLYMPUS C-5060). De cada montaje seleccionado se tomaron cinco medidas aleatorias del grosor en micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) a lo largo de los tejidos, epidermis adaxial (EA), parénquima de empalizada (PE), parénquima esponjoso (PS) y epidermis abaxial (EX) y la cutícula (CU). Las imágenes obtenidas fueron analizadas con el programa especializado Compu Eye, Leaf & Symptom Area software (Bakr 2005).

Los caracteres arquitectónicos medidos fueron número de hojas (HJ), número de ramas (RS) y sumatoria de la longitud de las ramas (LR).

### 1.3 Análisis estadístico

#### 1.3.1 Variación temporal de la plasticidad

Un análisis de varianza de dos vías fue aplicado (factores principales: Tiempo y Luz) sobre todos los caracteres para responder si existió variación temporal en la respuesta del genotipo a la variación en la disponibilidad de luz a través de la ontogenia. Todos los caracteres medidos en esta investigación fueron transformados mediante raíz cuadrada, para que cumplieran las asunciones de normalidad y homogeneidad de varianza. La variación temporal puede aparecer según este modelo cuando se presenta variación para la plasticidad (interacción significativa de Edad  $\times$  Luz) o cuando no

existe interacción de Edad  $\times$  Luz (plasticidades iguales) pero la plasticidad media (elevación de la pendiente) es diferente a través de la ontogenia.

Por lo tanto, se prestó atención a la significancia de la interacción de los factores principales. Una interacción significativa indica que la especie responde diferentemente a la luz a través de la ontogenia. Estas diferencias pueden ser cualitativas (normas de reacción con pendientes de diferente signo) o cuantitativas (normas de reacción de diferentes pendientes). Consecuentemente cuando se presentó interacción significativa entre Edad  $\times$  Luz, las diferencias en plasticidad de los caracteres fueron evaluadas a través de la comparación de pendientes de las normas de reacción (Weis y Gorman 1990, Gianoli 2001, Gonzalez y Gianoli 2004). Esto fue hecho a través de una comparación múltiple de pendientes (Zar 1999) seguida a un ANCOVA (factor principal: edad de las plántulas; variable dependiente: caracter; Covariante: Luz).

Siguiendo el supuesto de regulación “epistática” (Pigliucci 2001) en este trabajo se incluye el análisis del fenotipo promedio a través de los ambientes (elevación de las pendientes). Así los caracteres que no presentaron diferencias significativas en la interacción de los factores principales y en el ANCOVA (i.e., la plasticidad no varió en los diferentes tiempos) se les realizó una comparación de elevaciones (Zar 1999), y se determinó con ello si existió variación temporal en la respuesta plástica promedio. Posteriormente, un test múltiple de elevaciones (Zar 1999) permitió determinar si el valor promedio de la plasticidad aumentó a través del tiempo.

### 1.3.2 Integración de la plasticidad

La graficación de las plasticidades con sus correspondientes errores estándar permitió la determinación de si algunos caracteres fueron más plásticos que otros (Loftus 1993) a través de la ontogenia. Para responder si las respuestas plásticas a la disponibilidad de luz son coordinadas o su respuesta es carácter específica se realizó una comparación de las plasticidades observadas en todos los caracteres a través de la ontogenia mediante la prueba no paramétrica: Friedman ANOVA (Zar 1999). Las conclusiones de la prueba Friedman ANOVA fueron soportados con la graficación de las plasticidades a través de la ontogenia para caracteres arquitectónicos y morfológicos permitiendo observar como la variación de la plasticidad trabaja en conjunto para algunos caracteres, algo que no podría revelarse realizando una correlación lineal entre caracteres, ya que la relación entre ellos puede en muchos casos alejarse de un modelo lineal (Loftus 1993).

## **2. RESULTADOS**

El aumento de la intensidad de luz tubo un efecto significativo sobre los caracteres arquitectónicos y anatómicos de *Lippia alba*. En general, un aumento en la intensidad de luz para los caracteres arquitectónicos (Figura 1) produjo un incremento en HJ, RS y en LR (Tablas 1 y 2). Los caracteres anatómicos foliares presentaron patrones opuestos en respuesta al aumento de la disponibilidad de luz (Figura 2) dependiendo de la edad en la que fueron medidos; en general, el incremento de la intensidad de luz aumentó el grosor de CU (excepto a los 48 días), EA (excepto a los 34 días), PE (excepto a los 48 días) y el PS (excepto a los 48 días); EX no fue afectada por la intensidad de luz (Tablas 1 y 2). Durante la ontogenia tanto caracteres arquitectónicos como morfológicos presentaron diferencias significativas (Tablas 1 y 2).

Normas de reacción a través de la ontogenia para todos los caracteres medidos en la Figura 1 y 2. Una interacción significativa de los principales factores en el ANOVA (Edad \* Luz), reveló una variación de la plasticidad a través de la ontogenia en respuesta a la intensidad de luz para el HJ y todos los caracteres anatómicos foliares (Tabla 2). Sin embargo, exhibieron niveles similares de plasticidad fenotípica los caracteres RS y LR (Tabla 2).

El ANCOVA y la comparación múltiple de pendientes seguida a este, revelaron diferencias en la intensidad de la plasticidad a través del tiempo para el número de hojas y todos los caracteres anatómicos foliares (Tabla 3 y 5). La comparación preliminar para las elevaciones de los caracteres que exhibieron niveles similares de plasticidad fenotípica, reveló que el número de ramas ( $F = 103.64$ ,  $0.001 > P > 0.0025$ ) y la sumatoria de la longitud de las ramas ( $F = 183.74$ ,  $0.0005 > P > 0.001$ ) presentaron diferencias significativas en sus elevaciones (i.e., fenotipo medio a través de los ambientes en los diferentes tiempos); la comparación múltiple a posteriori de estos caracteres (Tabla 4) mostró variación en el fenotipo medio para cada uno de los tiempos.

Las pruebas Friedman ANOVA revelaron diferencias significativas para la plasticidad ( $X^2 = 20,36$ ;  $P < 0.0024$ ) y el fenotipo medio ( $X^2 = 25,83$ ;  $P < 0.0005$ ) entre los diferentes caracteres a través de la ontogenia (Figura 3 y 4). Los caracteres que presentaron mayor variación de su plasticidad a través de la ontogenia fueron todos los caracteres arquitectónicos (HJ, LR, RS), PE y PS (Figura 3). La anterior tendencia es

similar a la presentada por la expresión del fenotipo medio a través de los ambientes (Figura 4); sin embargo, no siempre una mayor variación en la plasticidad (ver caracter HJ en Figura 3) implica una mayor variación en el fenotipo medio expresado a través de la ontogenia (ver caracter HJ Figura 4).

Algún nivel de integración para la plasticidad puede ser observado para HJ, LR, PE, y PS, al menos durante los primeros días de las plántulas (ver entrecruzamiento de trayectorias en Figura 5); sin embargo, PE y PS cuyas trayectorias fueron estrechas durante la ontogenia respondieron al cambio ambiental de una manera más coordinada (Figura 5). La misma situación ocurrió para EA, EX y CU.

Para la integración del fenotipo medio expresado a través de los ambientes también se observó una alta correlación entre PE y PS (Figura 6); sin embargo, esta relación no fue de la misma forma que para la plasticidad (Figura 5). Cabe resaltar que solo se presentó una estrecha relación para el fenotipo medio de EA y EX (Figura 6) excluyendo a CU de la relación observada para las plasticidades (Figura 5).

### **3. DISCUSIÓN**

Los resultados de este estudio guían a cuatro puntos importantes: (1) Esta especie presentó una variación temporal en la expresión del fenotipo medio y su respuesta plástica a la variación en la disponibilidad de luz para caracteres arquitecturales y anatómicos foliares, por lo tanto las respuestas plásticas fueron dependientes de la edad en la que se midieron. (2) La plasticidad de caracteres anatómicos foliares presentó

reversibilidad a través del tiempo. (3) La variabilidad de la plasticidad a través de la ontogenia es mayor en caracteres arquitecturales que en caracteres anatómicos foliares; sin embargo, la respuesta de los tejidos del parénquima es del mismo orden de magnitud que la variación de la plasticidad en el número de ramas. (4) Los tejidos del parénquima (PE, PS) de esta especie respondieron a un cambio en la disponibilidad de luz a través del tiempo en una manera altamente coordinada, que implicó no solo una integración de su plasticidad sino de su fenotipo medio a través del tiempo.

Los cambios morfológicos debidos a un incremento en la intensidad de luz (i.e. Un aumento en el número de HJ, RS, aumento en LR y en el grosor de PE, PS, EA, EX, CU) concordaron con los cambios esperados para la maximización de la explotación solar (Essau 1977, Hutchings y de Kroon 1994). Los resultados concuerdan con otros trabajos que midieron caracteres arquitectónicos en *Ipomea purpureae* (Gianoli 2003) y el género *Convolvus* (Gianoli 2001, Gonzales 2004).

Se han propuesto varios mecanismos para la regulación genética de la plasticidad (Schneider y Lyman 1991). Uno de estos mecanismos, la *Epistasis*, predice que al menos dos distintas clases de genes controlan las dos características fundamentales de una norma de reacción: su plasticidad y su valor promedio a través del ambiente (la altura o el intercepto con la ordenada de la norma de reacción). Al menos dos resultados permiten hacer una suposición robusta acerca de la regulación de la plasticidad y su fenotipo medio a través de un modelo epistático en esta especie: (1) una variación en la plasticidad no implica una variación en el fenotipo medio expresado a través de la ontogenia (ver HJ en Figura 3 y 4). (2) El fenómeno de integración

fenotípica no tiene el mismo patrón para la plasticidad que para su fenotipo medio. Es decir, unos caracteres responden coordinadamente para la plasticidad (ver PE, PS y EA, EX, CU en Figura 5) pero no para su fenotipo medio (ver exclusión de CU en Figura 6).

Las consecuencias evolutivas de este modelo epistático recaen en el hecho de que la selección puede actuar independientemente sobre la plasticidad y su fenotipo medio (de Jong 1990, Scheiner y Lyman 1991, Gavrillets y Scheiner 1993) originando situaciones en las cuales el fenotipo medio puede evolucionar pero la plasticidad no (Pigliucci 2001), como es el caso de RS y LR en esta especie; o de otro modo, situaciones en las cuales la plasticidad y el fenotipo medio pueden evolucionar (Pigliucci 2001), como es el caso de HJ y todos los caracteres anatómicos foliares. Por lo tanto las normas de reacción observadas de acuerdo al teorema fundamental de la selección natural (Fisher 1930) parecen ser el resultado de una intensa selección sobre la plasticidad de RS y LR y una selección relajada o variable (Pigliucci 2001) sobre los patrones de plasticidad a través de la ontogenia en HS y el resto de caracteres anatómicos.

Cheplick (1995) reportó un incremento de la plasticidad a través de la ontogenia para caracteres arquitectónicos en *Amphibromus scabrivalvis*. Así, el resultado más relevante de esta investigación es el descubrimiento de que la plasticidad puede sufrir reversibilidad a través de la ontogenia en caracteres anatómicos foliares de *Lippia alba* creciendo en un gradiente de luz. Estos momentos en los cuales las pendientes de las normas de reacción fueron de signos contrarios a los cambios esperados para la maximización de la explotación solar han sido reportados tan solo al final de la fase vegetativa (i.e fenotipos adultos) en otros trabajos al nivel (dentro de género) de

especies (Sultan *et al.* 1998) o aún y más relevante para las implicaciones generales de este trabajo a nivel de genotipos en *Polygonum persicaria* (Sultan y Bazzaz 1993).

La existencia de diferentes patrones de respuestas a la intensidad lumínica en diferentes especies al final del periodo vegetativo, de acuerdo al teorema fundamental de la selección natural (Fisher 1930), puede ser interpretado como el resultado de selección intensa a través de la historia de la especie sobre la plasticidad experimentada a través de su ontogenia (Schlichting y Pigliucci 1998, Pigliucci 2001). Desde luego la selección no podría actuar si no existiera variabilidad de la expresión de la plasticidad a través de la ontogenia, es decir que existiera la posibilidad de “seleccionar” un patrón plástico opuesto a los cambios esperados para la maximización de la explotación solar, como lo observado aquí para *Lippia alba*.

De otro lado, la existencia de reversibilidad en caracteres anatómicos foliares en esta especie puede explicarse como un fenómeno heterocrónico (Wray y McClay 1989, Ambros y Moss 1994, Schichnes y Freeling 1998) de tal forma que al final de la ontogenia los fenotipos adultos en cada ambiente semejen estadios más juveniles, paedomorfía (Gould 1977, Alrbech *et al.* 1979, Cubo *et al.* 2000). Mantener una expresión mayor en cada uno de los ambientes al final del periodo vegetativo podría resultar muy costoso para la gran inversión de biomasa en estructuras reproductivas entrada la floración (Susko y Lovett-Duost 2000).

Respecto a la hipótesis principal de este trabajo, se encontró una relación directa entre la amplitud del rango ecológico de esta especie, la variabilidad de la plasticidad (diferentes

intensidades y patrones) en caracteres anatómicos foliares (PE y PS) y la restricción en la variación de la plasticidad de caracteres arquitecturales (LR y RS). Sin embargo, un test completo de estos hallazgos requieren estudios con una especie congénica de distribución ecológica restringida. Estas implicaciones situán a *Lippia alba* como una especie generalista cuya sobrevivencia en un amplio rango de distribución ambiental pudo surgir de la variación de la plasticidad a través de su desarrollo.

#### **4. AGRADECIMIENTOS (AKNOWLEDGMENTS)**

Nosotros agradecemos a los directores de los Laboratorios de Histotecnica y Biología Reproductiva de Vertebrados de la Escuela de Biología de Universidad Industrial de Santander por su apoyo en la logística de los cortes histológicos y la medición de los tejidos foliares. Los fondos para esta investigación fueron parcialmente financiados por COLCIENCIAS (Co 432-CENIVAM).

## 5. BIBLIOGRAFIA

ALRBECH, P., GOULD, S. J., OSTER, G.F., y WAKE, D.B. 1979. Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* 5: 296-317.

AMBROS, V., y MOSS, E.G. 1994. Heterochronic genes and the temporal control of *C. elegans* development. *Trends in genetics* 10: 123-127.

BAKR, E. M. 2005. A new software for measuring leaf area, and area damaged by *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Entomology* 129 (3), 173-175.

BRADSHAW, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic in plants. *Adv. Genet.* 13:115-155.

CHEPLICK, G.P 1995. Genotypic Variation and Plasticity of clonal growth in relation to nutrient availability in *Amphibromus scabrivalvis*. *Journal of Ecology* 83, 459-468.

CUBO, J., FOUCES, V., GONZALES-MARTIN, M., PEDROCCHI, V., y RUIZ, X. 2000. Non heterochronic development changes underlie morphological heterochrony in the evolution of the Ardeidae. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 269-276.

de JONG, G. 1990. Quantitative genetics of norm reaction. *Journal of Evolutionary Biology* 3:447-468.

ESSAU, K. 1977. Anatomía de plantas con semilla, pp.550. Jhon Wiley & Sons, New York,

FISHER, R.A. 1930. The Genetical Theory of Natural Selection. Oxford: Claredon.

FUTUYMA, D.J., y MORENO G. 1988. The evolution of ecological specialization. Annu. Rev. Ecol. Syst. 19, 207-233.

GAVRILETS, S., y SCHEINER, S.M. 1993. The genetics of phenotypic plasticity. V. Evolution of reaction norm shape. Journal of Evolutionary Biology 6: 31-48.

GIANOLI, E. 2001. Lack of the differential plasticity to shading of internodes and petioles with growth habitat in *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae). Int. J. Plant Sci. 162, 1247-1252.

GIANOLI, E. 2003. Phenotypic responses responses de twining vine *Ipomoea purpurea* (Convolvulaceae) to physical support availability in sun and shade. Plant Ecol. 165, 21-26.

GONZALES A.V., y GIANOLLI, E. 2004. Morphological plasticity in response to shading in three *Convolvulus* species of different ecological breadth. Acta oecologica. 26 185-190.

GOULD, S.J. 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. Cambridge, Mass: Harvard University Press.

HUTCHINGS, M.J., y de KROON, H. 1994. Foraging in plants: the role of morphological plasticity in resource acquisition. *Adv. Ecol. Res.* 25 159-238.

GEDROC, J.J., McCONNAUGHAY, K.D.M y COLEMAN J.S. 1996. Plasticity in root/shoot partitioning: optimal, ontogenetic, or both?. *Functional Ecology* 10: 44-50.

GIANOLI, E. 2001. Lack of differential plasticity to shading of internodes and petioles with growth habitat in *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae). *Int. J. Plant Sci.* 162, 1247-1252.

GIANOLI, E. 2004. Plasticidad Fenotípica Adaptativa en Plantas. *Fisiología Ecológica en plantas*, pp.13-25. Ed. Marino. EUV, Valparaíso.

GONZÁLES, A.V., y GIANOLI, E. 2004. Morphological plasticity in response to shading in three *Convolvulus* species of different ecological breadth. *Acta Oecológica* 26, 185-190.

GOULD, S.J. 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. Harvard University Press, Mass, Cambridge, Massachusetts.

LOFTUS, G.R. 1993. A picture is worth a thousand  $p$  values: on the irrelevance of hypothesis testing in the microcomputer age. *Behavior Research Methods, Instruments & Computers* 25:250-256.

McCONNAUGHAY, K.D.M., y COLEMAN J.S. 1999. Biomass allocation in plants: Ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology* 80: 2581-2593.

METCALFE, C.R., y CHALCK, L. 1979. *Anatomy of the Dicotyledons*, pp. 276 Clarendon press, Oxford.

MÜLLER, I., SCHMID, B., y WEINER, J. 2000. The effect of nutrient availability on biomass allocation patterns in 27 species of herbaceous plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3: 115–127.

PANIAGUA, R. 1997. *Histología y Organografía Vegetal. Citología e Histología Vegetal y Animal*, pp. 805-810. Mc Grall-Hill, Interamerica, Madrid.

PIERSMA, T., y LINDSTROM, A. 1997. Rapid reversible changes in organ size as a componet of adaptative behaviour. *Trends in Ecology and Evolution* 12: 134-138.

PIGLIUCCI, M., y SCHLICHTING, C.D. 1995. Ontogenetic reaction norms in *Lobelia siphilitica* (Lobeliaceae): Response to Shading. *Ecology* 76: 2134-2144.

PLIGLIUCCI, M., SCHLICHTING, C.D., JONES, C.S., y SCHWENK, K. 1996. Developmental reaction norm : the interaction among allometry, ontogeny and plasticity. *Plant Species Biology* 11:69-85.

PIGLIUCCI, M. 2001. Phenotypic Plasticity : Beyond Nature and Nurture (Syntheses in Ecology and Evolution) The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London.

QUEIROZ VOLTAN, R.B., FAHL, J.I., y CARVALHO CARELLI, M.L. 1992. Variação na Anatimia Foliar de Cafeeiros submetidos a Diferentes Intensidades Luminosas. *Revista. Bras. Fisiol.Veg.* 4 (2): 99-105

RUZIN, S.E. 1999. *In Plant Microtechnique and Microscopy*, pp. 108. Oxford University Press. New York.

SCHICHNES, D.E., y FREELING, M. 1998. Lax midrib1-0, a systemic, heterochronic mutant of maize. *American Journal of Botany* 85: 481-491.

SCHLICHTING, C.D., y PIGLIUCCI, M. 1998. Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective. Sunderland, Mass Sinauer.

SCHMALHAUSEN, I.I. 1949. Factor of Evolution: The Theory of Stabilizing Selection. Chicago: University of Chicago Press.

SCHNEIDER, S.M., y LYMAN, R.F. 1991. The genetics of phenotypic plasticity. II. Response to selection. *Journal of Evolutionary Biology* 4: 23-50.

SCHNEIDER, S.M. 1993. Plasticity as a Selectable Trait Reply to Via. *American Naturalist* 142: 371-373.

SLOBODKIN, L.B. 1968. Toward a predictive theory of evolution. In R.C. Lewontin (ed.), *Population Biology and Evolution*, Chapter 13. Syracuse University Press, NY.

SULTAN, S.E., y BAZZAZ, F.A. 1993. Phenotypic plasticity in *Polygonum persicaria*. I. Diversity and uniformity in genotypic norms of reaction to light. *Evolution* 47, 1009-1031.

SULTAN, S.E., WILCZEZEK, A.M., BELL, D.L., y HAND, G. 1998. Physiological response to complex environments in annual *Polygonus* species of contrasting ecological breadth. *Oecologia* 115, 564-578.

SUSKO, D.J., y LOVETT-DUOST, L. 2000. Plant-size and fruit-position effects on reproductive allocation in *Alliaria petiolata* (Brassicaceae). *Can. J. Bot.* 78(11): 1398–1407.

TRONCOSO N. S. 1974. Los Generos de Verbenaceas de Sudamerica Extratropical, pp. 334, 338. De Darwiniana. Buenos Aires, Argentina.

van TIENDEREN, P.H. 1997. Generalists, specialists, and the evolution of phenotypic plasticity in symmetric populations of distinct species. *Evolution* 51: 1372-1380.

WEIS, A.E., y GORMAN, W.L. 1990. Measuring Selection on reaction norm: an exploration of the *Eurosta-Solidago* system. *Evolution* 44: 820-831.

WRAY, G.A., y McCLAY, D.R. 1989. Molecular heterochronies and heterotopias in early echinoid development. *Evolution* 43: 803-813.

ZAR, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice-hall, New Jersey.

**Tabla 1.** Caracteres morfoanatómicos foliares y arquitecturales de plantas de *Lippia alba* creciendo en diferentes niveles de luz incidente (33%, 57% y 100%) en diferentes de etapas de desarrollo. Se observa la media y el (error estándar).

	<b>20 DÍAS</b>			<b>34 DÍAS</b>		
	<b>33%</b>	<b>57%</b>	<b>100%</b>	<b>33%</b>	<b>57%</b>	<b>100%</b>
<b>Anatomía foliar (µm)</b>						
Cutícula	1,39 (0,02)	1,36 ( 0,02)	1,70 (0,04)	1,48 (0,02)	1,64 (0,03)	1,76 (0,02)
Epidermis adaxial	12,86 (0,20)	10,51 (0,14)	14,33 (0,34)	10,55 (0,19)	10,48 (0,23)	10,08 (0,14)
Parénquima de empalizada	54,64 (1,02)	89,05 (0,85)	78,20 (1,29)	69,07 (0,71)	100,90 (1,75)	112,89 (1,14)
Parénquima esponjoso	63,05 (1,08)	113,18 (1,79)	86,81 (1,64)	68,72 (0,93)	110,16 (2,00)	116,67 (1,47)
Epidermis abaxial	8,61 (0,15)	7,61(,010)	7,75 (0,10)	7,95 (0,10)	8,08 (0,15)	7,35 (0,08)
<b>Arquitectura (cm.)</b>						
Número de hojas	69,29 (8,02)	55,43 (4,50)	60,71 (7,23)	175,14 (16,38)	339,57 (41,25)	382,86 (36,36)
Número de ramas	2,43 (0,30)	3,43 (0,57)	3,43 (0,30)	9,14 (1,24)	17,43 (2,72)	19,43 (1,76)
Longitud de ramas	60,47 (7,36)	45,76 (5,18)	38,06 (4,20)	202,31 (29,41)	283,84 (42,91)	334,93 (31,40)
	<b>48 DÍAS</b>			<b>62 DÍAS</b>		
	<b>33%</b>	<b>57%</b>	<b>100%</b>	<b>33%</b>	<b>57%</b>	<b>100%</b>
<b>Anatomía foliar (µm)</b>						
Cutícula	1,50 (0,02)	1,62 (0,03)	1,52 (0,02)	1,52 (0,02)	1,74 (0,02)	1,66 (0,03)
Epidermis adaxial	10,45 (0,14)	10,14 (1,08)	11,24 (0,28)	10,13 (0,16)	12,07 (0,26)	11,52 (0,22)
Parénquima de empalizada	72,36 (1,02)	53,75 (1,81)	44,80 (0,73)	40,19 (0,70)	55,50 (0,68)	74,04 (1,72)
Parénquima esponjoso	75,66 (6,33)	56,12 (1,64)	47,80 (1,12)	39,29 (1,13)	57,53 (1,04)	65,05 (1,36)
Epidermis abaxial	7,51 (0,09)	7,12 (0,14)	8,14 (0,12)	6,84 (0,39)	7,84 (0,12)	7,81 (0,14)
<b>Arquitectura (cm.)</b>						
Número de hojas	394,57 (46,46)	444,14 (65,05)	715,14 (39,43)	692,86 (40,10)	944,43 (104,06)	1239,43 (135,01)
Número de ramas	17,43 (2,95)	17,14 (2,12)	27,14 (3,43)	29,71 (4,06)	32,71 (3,29)	44,29 (5,89)
Longitud de ramas	393,9 (54,57)	443,93 (54,94)	578,38 (46,21)	808,86 (56,38)	1129,53 (124,11)	1171,96 (153,73)

**Tabla 2.** ANOVA de dos vías para caracteres morfoanatómicos y arquitecturales de plantas de *Lippia alba* creciendo en diferentes niveles de luz (33%, 57% y 100% de luz incidente) en diferentes etapas de desarrollo. Factores principales: Nivel de luz y Edad. Se muestran los valores P.

	<b>Luz</b>	<b>Edad</b>	<b>Luz*Edad</b>
<b>Arquitectura</b>			
Número de hojas	0.0000	0.0000	0.0012
Número de ramas	0.0000	0.0000	0.2243
Longitud ramas	0.0039	0.0000	0.0988
<b>Anatomía foliar</b>			
Cutícula	0.0001	0.0001	0.0001
Epidermis adaxial	0.0000	0.0000	0.0000
Parénquima empalizada	0.0001	0.0001	0.0001
Parénquima esponjoso	0.0001	0.0001	0.0001
Epidermis abaxial	0.4656	0.0000	0.0000

**Tabla 3.** ANCOVA para caracteres morfoanatómicos y arquitecturales de plantas de *Lippia alba* creciendo en diferentes niveles de luz (33%, 57% y 100% de luz incidente) en diferentes etapas de desarrollo. Factores principales: Nivel de luz y Edad. Se muestran los valores P.

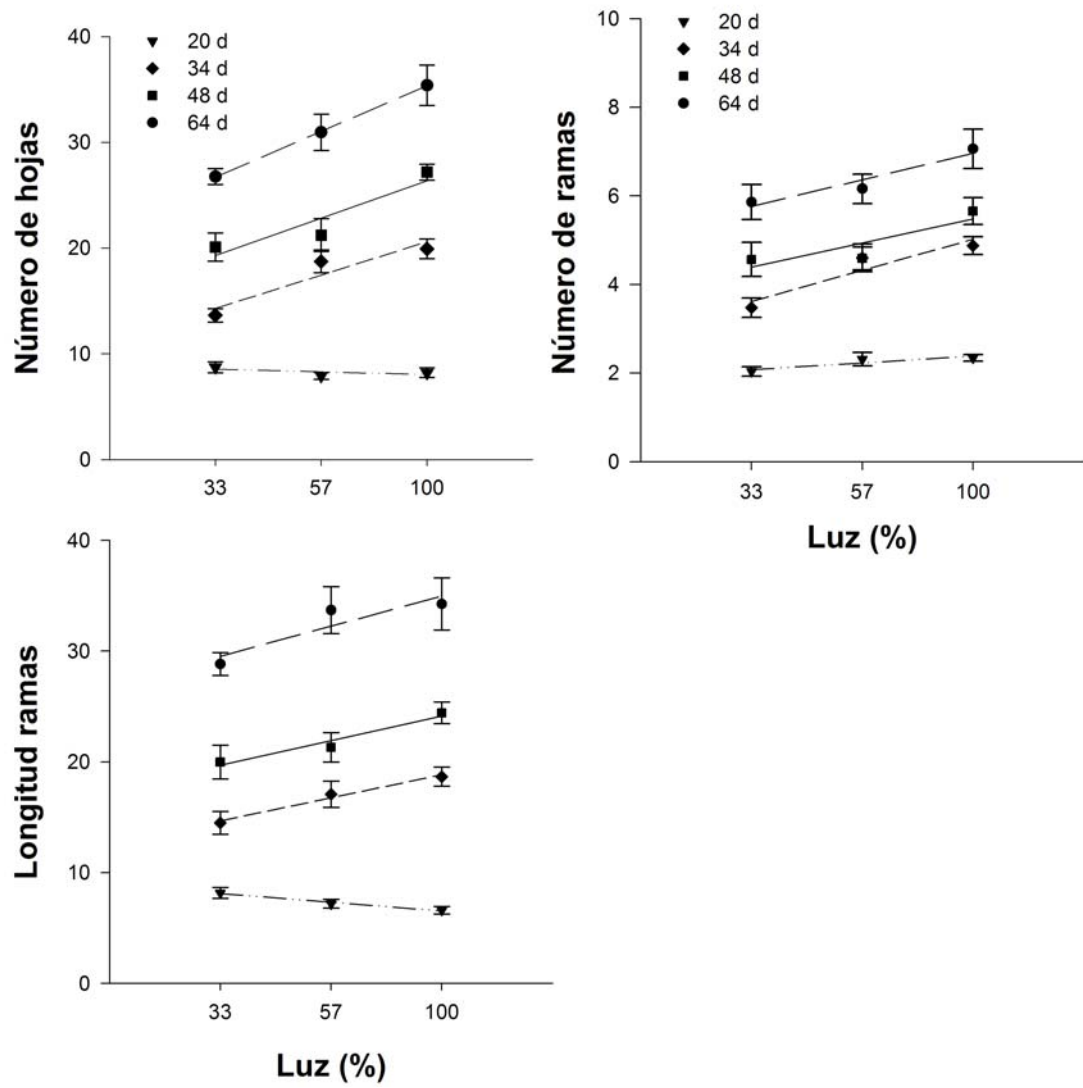
	<b>Luz</b>	<b>Edad</b>	<b>Luz*Edad</b>
<b>Arquitectura</b>			
Número de hojas	0.0000	0.0000	0.0007
<b>Anatomía foliar</b>			
Cutícula	0.0000	0.0000	0.0000
Epidermis adaxial	0.0000	0.0751	0.0001
Parénquima empalizada	0.0001	0.0001	0.0001
Parénquima esponjoso	0.0001	0.0001	0.0001
Epidermis abaxial	0.2677	0.0000	0.0000

**Tabla 4.** Resultados de la comparación múltiple entre elevaciones en diferentes edades en la etapa vegetativa. El valor corresponde al intercepto con el eje Y. (Diferencias entre las elevaciones)

	<b>20</b>	<b>34</b>	<b>48</b>	<b>62</b>
<b>Arquitectura</b>				
Número de ramas	1,9708 (a)	3,1026 (b)	3,8431 (c)	5,2049 (d)
Longitud de ramas	8,7358 (a)	12,9980 (b)	17,6749 (c)	27,6502 (d)

**Tabla 5.** Resultados de la comparación múltiple entre pendientes en diferentes edades en la etapa vegetativa. El valor corresponde a la pendiente. (Diferencias entre las pendientes)

	<b>20</b>	<b>34</b>	<b>48</b>	<b>62</b>
<b>Arquitectura</b>				
Hojas	-0.0060 (a)	0,0860 (b)	0,1096 (b)	0,1260 (b)
<b>Anatomía foliar</b>				
Cutícula	0,00194 (b)	0,00159 (b)	0,00004 (a)	0,00062 (a)
Epidermis				
Adaxial	0,00387 (b)	-0.0010 (a)	0,00199 (a)	0,00257 (a)
Parénquima				
Empalizada	0,01684 (a)	0,03246 (c)	-0.0258 (b)	0,03252 (c)
Parénquima				
Esponjoso	0,01345 (a)	0,03455 (c)	-0.0230 (b)	0,02544 (b)
Epidermis				
abaxial	-0.0018 (a)	-0.0017 (a)	0,00189 (a)	0,00276 (a)



**Figura 1.**

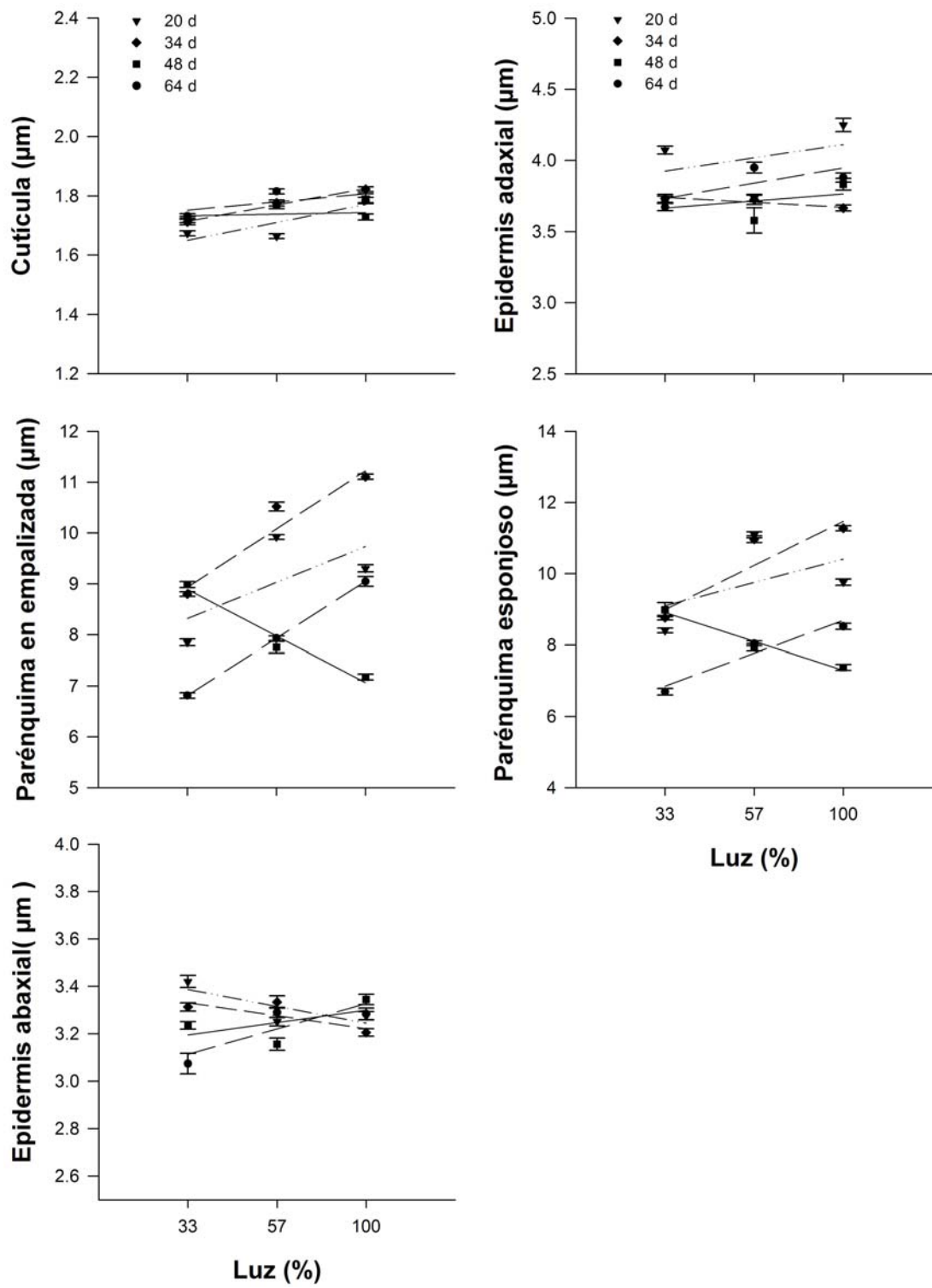
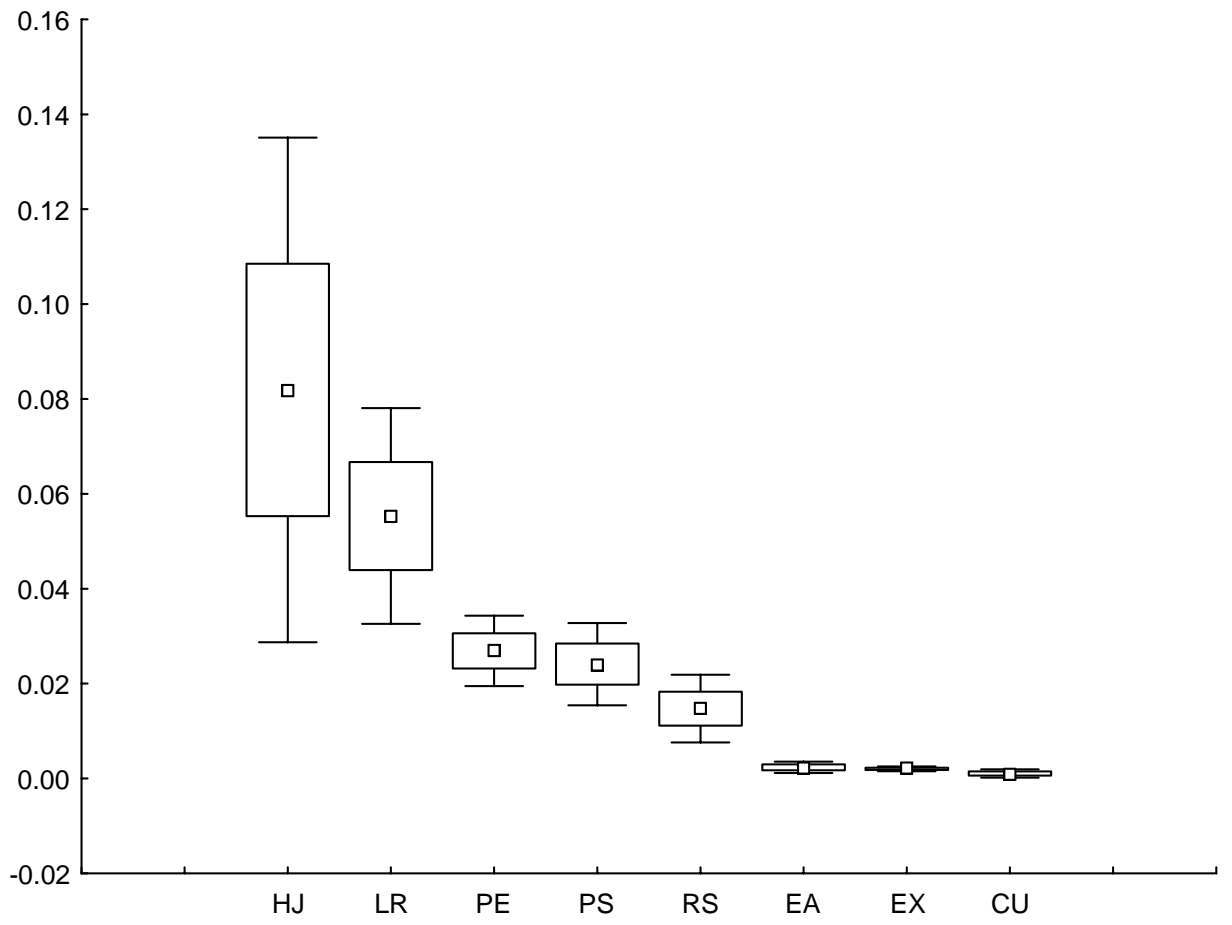
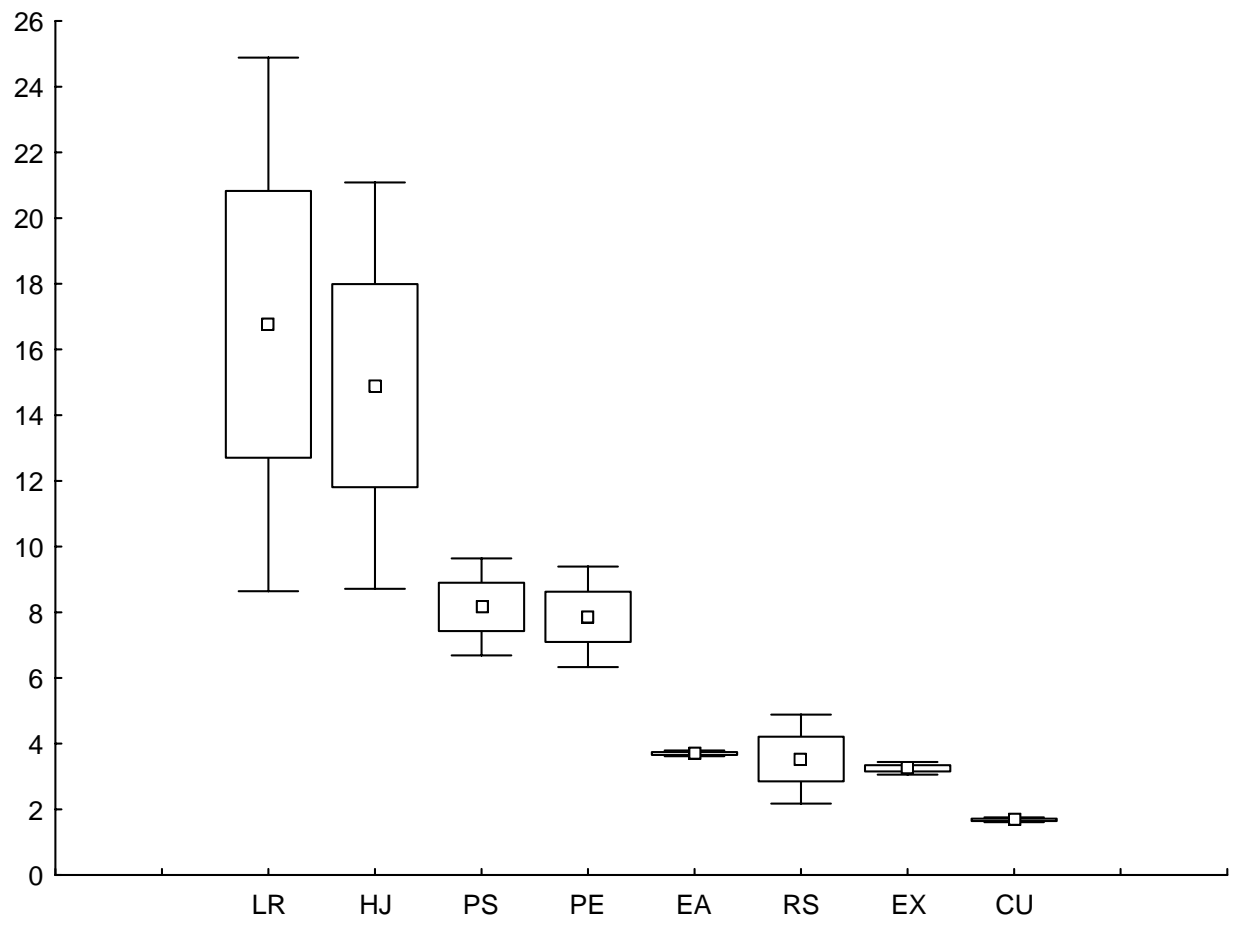


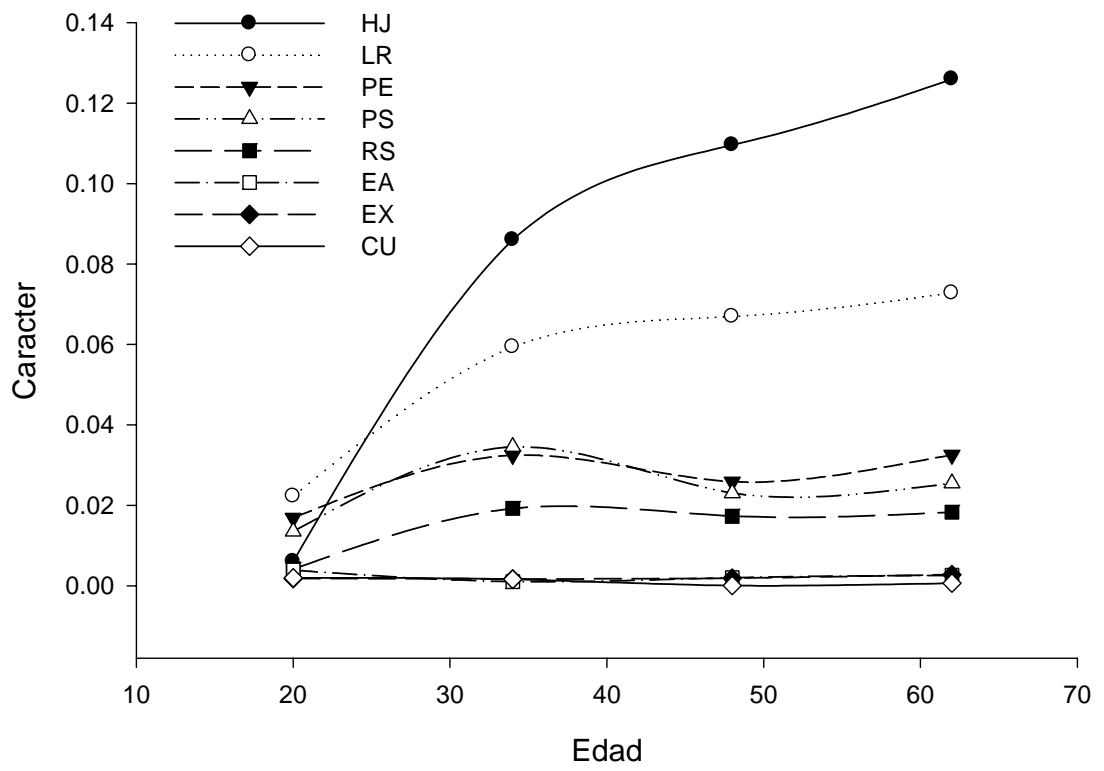
Figura 2.



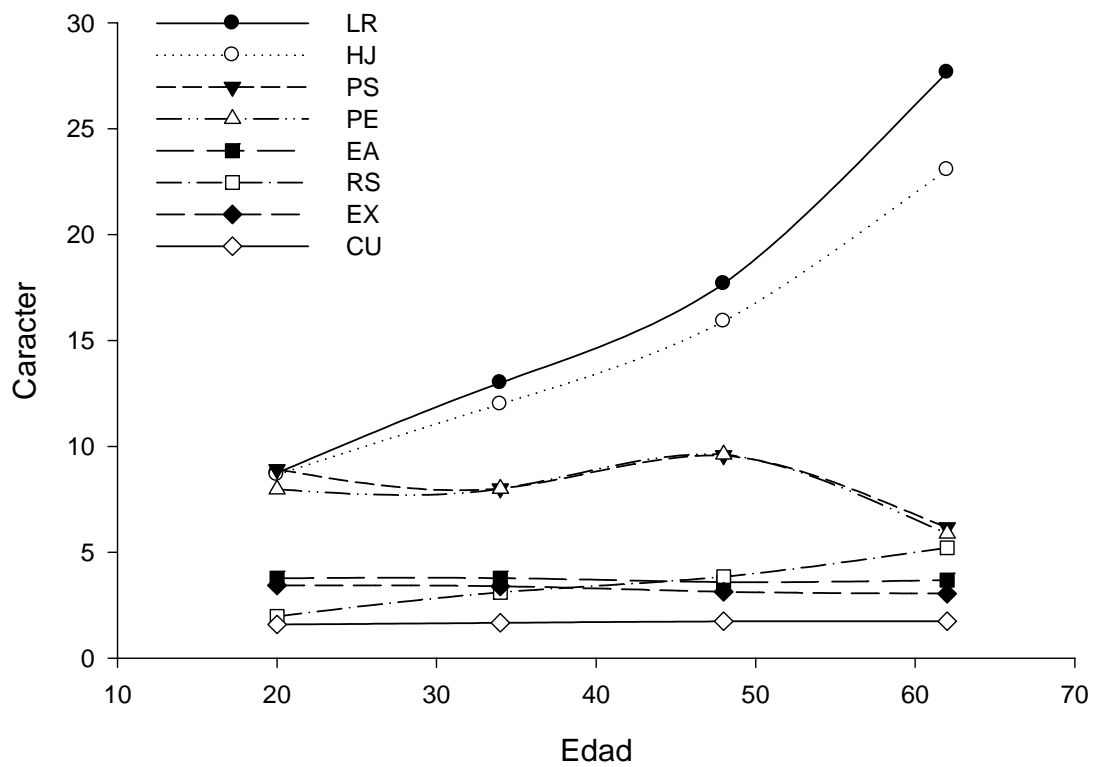
**Figura 3.**



**Figura 4.**



**Figura 5.**



**Figura 6.**